

# 論文審査の結果の要旨

氏名 伊藤 拓宏

本論文は 4 章から構成されている。第 1 章は序章として研究の背景について、第 2 章は hU2AF<sup>65</sup> の RBD1 と RBD2 の立体構造について、第 3 章は RBD1-RBD2 と 2 つのドメインがつながった状態での標的 RNA の認識機構について、第 4 章は総合討論として全体についての考察について述べられている。

第 1 章は本論文の背景と目的を述べる序章であり、スプライシングにおける human U2 small nuclear ribonucleoprotein particle auxiliary factor (hU2AF) の機能についての説明がなされている。hU2AF はイントロン中の 3'スプライス部位の近傍に存在するポリミジンに富む配列 (polypyrimidine tract, PPT) に結合し、それにより 3' スプライス部位が決定されるスプライシングに必須のタンパク質であることが述べられている。

第 2 章は hU2AF の大サブユニットである hU2AF<sup>65</sup> の RNA 結合ドメイン (RBD) の立体構造解析について述べられている。はじめに 3 つ存在する hU2AF<sup>65</sup> の RBD のうち、1 番目と 2 番目の RBD (RBD1 と RBD2) が標的 RNA である PPT への結合能を有することを紫外線架橋法により検証し、つづいて RBD1 と RBD2 のそれぞれの立体構造を NMR 法により決定している。その結果、RBD2 の立体構造は他の典型的な RBD と類似した立体構造であるのに対して、RBD1 は特徴的な立体構造をしていた

ことが明らかにされている。具体的には RBD1 の  $\alpha 1$  ヘリックスが 1 ターン C 末端側に長く、 $\alpha 1/\beta 2$  ループは 12 残基と通常の 5 残基と比較して長いことなどが述べられている。Chemical shift perturbation 実験により RBD1 と RBD2 の両ドメインともにベータストランドの領域で PPT を認識しながらも、両者の認識様式は  $\beta 2$  ストランド周辺で異なることが述べられている。また、RBD1 の  $\alpha 1/\beta 2$  ループ周辺の特徴的な構造は PPT への結合に関与していないことから、RNA 結合でない何らかのスプライシングの機能を担っていると考察している。

第 3 章は hU2AF<sup>65</sup> RBD1-RBD2 の PPT の認識様式について述べられている。はじめに RBD1-RBD2 と RBD1-RBD2-RBD3 の PPT への結合能を NMR 法により検証した後に、ドメイン 2 つがタンデムにつながった RBD1-RBD2 の溶液中での PPT との結合様式について NMR 法による解析をおこなっている。ドメイン領域については第 2 章と同様の認識様式を保持していることが chemical shift perturbation 実験により明らかにされている。加えて Sxl タンパク質など他の RBD-RNA 複合体に観測されている標的 RNA への結合に同期したリンカー領域のヘリックスへの構造変化が、hU2AF<sup>65</sup> RBD1-RBD2 の場合には存在しないことが明らかにされている。また、部位特異的スピラベル法により、PPT の 5'末端側を RBD2 が認識し、3'末端側を RBD1 が認識していることが述べられている。これらの情報を用いて、hU2AF<sup>65</sup> RBD1-RBD2 と PPT との複合体についてモデルを提唱している。

第4章は第2章と第3章の結果をふまえて総合討論をおこなっている。現在までに明らかにされているRBD-RNA複合体とhU2AF<sup>65</sup>とを比較することにより、より詳細なhU2AF<sup>65</sup>によるPPTの認識機構についての洞察がおこなわれている。また、スプライシングにおける、hU2AF<sup>65</sup>の機能についての考察もおこなわれている。

なお、本論文第2章は、武藤裕・Michael R. Green・横山茂之との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析と検証をおこなったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。